

2/9/1

DIALOG(R) File 351:Derwent WPI

(c) 2002 Derwent Info Ltd. All rts. reserv.

009135586

WPI Acc No: 1992-263024/199232

XRAM Acc No: C92-117250

New antiinflammatory tetracycline derivs. - for treating articular rheumatism, osteoarthritis, Reiter's syndrome, Lyme disease, etc.

Patent Assignee: KURARAY CO LTD (KURS)

Number of Countries: 001 Number of Patents: 001

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
JP 4178359	A	19920625	JP 90216595	A	19900816	199232 B

Priority Applications (No Type Date): JP 90175077 A 19900701

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan Pg	Main IPC	Filing Notes
JP 4178359	A	11	C07C-237/26	

Abstract (Basic): JP 4178359 A

Cpds. contain a tetracyclic cpd. having collagenase inhibitory activity blended with a cpd. having antiinflammatory activity or their salts.

The prepn. involves adding a cpd. of formula (I) to a cpd. of formula Ar-CHCH₃COOH (II) to give a cpd. of formula (III). In formulae, R₁ is H, Cl, N,N-dimethylamino; R₂ and R₄ are H, OH; R₃ is H, Me; and Ar is a residue resulting from the removal of an alpha-methylpropionic acid moiety from an aromatic cpd. substd. alkyl carboxylic acid, e.g., Ibuprofen, Naproxen, Flurbiprofen, Roxoprofen, Pranoprofen, etc.

USE/ADVANTAGE - The derivs. are useful in the treatment of diseases accompanying inflammation such as articular disease mainly caused by infection, e.g. articular rheumatism, osteoarthritis, Reiter syndrome, Lyme disease, periodontal disease, corneal ulcer, cutaneous ulcer epidemolysis bullosa, etc..

The collagenase inhibitory activities (IC₅₀) of the cpds. shown in examples are 3 x 10 power(-3) to 1 x 10 power(-3) M compared with that of DMAT is 3 x 10 power(-4) M. The daily dose is 10 - 1000 mg in 1-5 portions. For external use, a pharmaceutical compsn. contg. 0.001-10%, pref. 0.05-5%, of the tetracycline derivs. is used.

In an example, to a soln. of Flurprofen (143mg) in THF (5ml) was added DCC (122mg) and the mixt. was stirred for 30 mins. A soln. of Doxycycline (222mg) in THF (20ml) and 4-dimethylaminopyridine (20mg) were subsequently added and the mixt. was stirred at room temp. overnight. The reaction mixt. was purified by preparative liq. chromatography to give Flurprofen - Doxycycline (45mg) as a yellow powder in 13% yield with a m.pt. of 135-138 deg.C

Dwg.0/0

Title Terms: NEW; ANTIINFLAMMATORY; TETRACYCLINE; DERIVATIVE; TREAT;

ARTICULAR; RHEUMATISM; OSTEOARTHRITIS; SYNDROME; DISEASE

Index Terms/Additional Words: COLLAGENASE; INHIBITION

Derwent Class: B05

International Patent Class (Main): C07C-237/26

International Patent Class (Additional): A61K-031/65; A61K-045/06

File Segment: CPI

Manual Codes (CPI/A-N): B02-T; B12-A07; B12-D03; B12-D07; B12-D09;

B12-G01B3; B12-L03; B12-L04

Chemical Fragment Codes (M2):

01 D022 E520 G010 G013 G015 G020 G021 G022 G029 G031 G035 G036 G038
G039 G040 G060 G111 G112 G221 G420 H1 H103 H141 H161 H4 H401 H402
H441 H461 H462 H541 H601 H602 H641 H642 H8 J0 J012 J2 J261 J3 J351
J5 J563 M111 M210 M211 M214 M232 M240 M272 M273 M281 M282 M283 M312
M321 M331 M340 M342 M372 M391 M412 M414 M510 M511 M520 M531 M532
M533 M540 M640 M650 M710 M903 M904 P420 P421 P423 P616 P738 P923
P943 V0 V201 V814 9232-14901-N 03505

Ring Index Numbers: 03505

Generic Compound Numbers: 9232-14901-N

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A) 平4-178359

⑮ Int. Cl.⁵

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 平成4年(1992)6月25日

C 07 C 237/26

7106-4H※

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全1頁)

⑭ 発明の名称 テトラサイクリン誘導体

⑯ 特 願 平2-216595

⑰ 出 願 平2(1990)8月16日

優先権主張 ⑱ 平2(1990)7月1日 ⑲ 日本(JP) ⑳ 特願 平2-175077

㉑ 発 明 者	坂 東 信 行	岡山県倉敷市酒津1652-1
㉒ 発 明 者	河 合 勉	岡山県倉敷市酒津1660
㉓ 発 明 者	濱 崎 高 史	岡山県倉敷市酒津2047-1
㉔ 発 明 者	嶋 村 三 智 也	岡山県倉敷市水江1-1
㉕ 発 明 者	小 林 悟 朗	岡山県倉敷市酒津1652-1
㉖ 発 明 者	滝 川 哲 夫	岡山県倉敷市白楽町160-4
㉗ 発 明 者	岡 田 雅 文	岡山県倉敷市水江1-1
㉘ 出 願 人	株 式 会 社 ク ラ レ	岡山県倉敷市酒津1621番地
㉙ 代 理 人	弁 理 士 本 多 堅	

最終頁に続く

明 細 書

1. 発明の名称

テトラサイクリン誘導体

2. 特許請求の範囲

コラゲナーゼ阻害活性を有するテトラサイクリン系化合物と抗炎症性化合物とが結合してなる化合物またはその塩。

3. 発明の詳細な説明

産業上の利用分野

本発明は、コラゲナーゼ阻害活性を有するテトラサイクリン系化合物と抗炎症性化合物とが結合してなる化合物またはその塩（以下、これをテトラサイクリン誘導体と称することがある）に関する。

本発明により提供されるテトラサイクリン誘導体は、結合組織の構成成分の1つであるコラーゲンの破壊によって特徴づけられ、しかも炎症を伴う各種の疾患、例えば、関節リウマチ、変形性関節炎、Reiter症候群および Lyme 病などの感染が主要原因とされる関節疾患、ならびに歯周病、角膜潰

瘍、皮膚潰瘍、表皮水泡症等の治療に有効である。

従来の技術

組織障害と炎症を特徴とする疾患は多様であるが、例えば関節リウマチおよび変形性関節炎に代表される関節疾患の治療には痛みと炎症の抑制を目的とした抗炎症性化合物、特に非ステロイド性抗炎症化合物を使用することが多い。この作用メカニズムはアラキドン酸のシクロオキシゲナーゼ代謝を阻害することによるプロスタグランディン類の合成阻害であり、このため非ステロイド性抗炎症化合物は直接の鎮痛抗炎症作用を有するとされている。また、関節疾患の病態の進展を抑制する目的で免疫調節剤が使用されている。さらに病状が進展した場合には副腎皮質ステロイドホルモン、金剤、免疫抑制剤等が使用されている。しかし、副腎皮質ステロイドホルモン以外の薬剤は効果が弱く、一方、副腎皮質ステロイドホルモンは長期に使用すると骨粗鬆症が惹起されるという問題点がある。

近年、これらの既存の薬剤とは異なった作用メ

カニズムを有する関節疾患治療剤の開発が希求され、関節組織の破壊抑制剤について多くの研究がなされてきた。このなかで、特に結合組織の破壊にコラゲナーゼなどのマトリックスメタロプロテアーゼが重要な役割を担っていることが明らかにされてきた [Drugs Fut., 15, 495(1990)参照]。

テトラサイクリン、ミノサイクリン、ドキシサイクリン、オキシテトラサイクリン、クロルテトラサイクリン、デメチルクロルテトラサイクリンなどのテトラサイクリン系抗生物質またはその塩(以下、これをテトラサイクリン類と称することがある)は抗菌スペクトルの広い抗生物質として汎用されているが、抗菌作用以外の作用も検討され、1983年にはニューヨーク州立大学(米国)の研究者によりミノサイクリンの歯周病における抗コラゲナーゼ作用が報告された [J. Periodontal Res., 18, 516(1983)参照]。それ以後、コラーゲンの破壊を特徴とする種々の疾患に関する研究の進展と相俟って、テトラサイクリン類についてこれら疾患の治療を目的とした臨床応用の検討

がなされてきている。具体的には、歯周病患者に対する投与例 [J. Periodontal Res., 19, 651(1984); J. Dent. Res., 68(Spec. Issue), 1691(1989)参照]、角膜潰瘍患者に対する投与例 [Cornea, 3, 75(1984) および Ann. Ophthalmol., 17, 742(1985)参照]、Reiter 症候群患者および Lyme 病患者の関節症に対する投与例 [Clin. Exp. Rheumatol., 7, 100(1989) および Annual Internal. Med., 99, 22(1983)参照]、関節リウマチ患者に対する投与例 [J. Rheumatol., 14, 28(1987)参照] 等が挙げられる。さらに1990年にオランダで行われた関節リウマチ患者10人に対するミノサイクリンの臨床試験の結果として投与開始後4週間目から有効性が認められたことが報告されている [J. Rheumatol., 17, 43(1990)参照]。

一方、ニューヨーク州立大学のグリーンワルド(R. A. Greenwald)らは1990年2月に開催された第36回米国整形外科学会において、ラットのアジュバント関節炎に対するミノサイクリン、

ドキシサイクリンおよびテトラサイクリンを化学修飾したデジメチルテトラサイクリン(以下、これをDMATと略称する)の投与効果を検討した結果として、いずれにおいてもコラゲナーゼ活性が減少し、かつ関節の病理所見より組織障害の抑制が認められたが、抗炎症効果は認められなかったことを報告している [The 36th Annual Meeting, Orth. Res. Soc., abstract p270(1990)参照]。
発明が解決しようとする課題

プロスタグランディン類の合成阻害によって鎮痛抗炎症効果を発現する非ステロイド性抗炎症化合物は関節疾患の治療に極めて重要であるが、疾患の進行を抑制し治療に向かわせる作用は有していない。一方、テトラサイクリン類およびDMATはコラゲナーゼ阻害作用を有しコラーゲンの分解を抑制することにより関節疾患の進行を抑制し治療に向かわせることのできる可能性はあるが、上述したように、これまでに実施された臨床試験の結果、およびラットアジュバント関節炎モデルでの動物実験の結果から判断すれば、テトラサイ

クリン類およびDMATはコラゲナーゼを阻害しコラーゲンの分解を抑制することによる組織破壊の抑制作用を有することは明らかであるが、抗炎症作用の発現を期待することはできない。

また、今日汎用される非ステロイド性抗炎症化合物は副作用として一般的にプロスタグランディン合成阻害による胃腸障害作用を有する。これまで、非ステロイド性抗炎症化合物の副作用の低減を目的に多くの研究がなされてきている。薬剤のプロドラッグ化はこのための1手法であり、インドメタシンをはじめとして多くの薬剤に関してプロドラッグ化の検討が行われてきたが、これらはいずれも組織破壊に着目したものではなかった。

しかして、本発明の目的は、関節リウマチ、変形性関節炎等の関節疾患のみならず、歯周病、角膜潰瘍、Reiter症候群、Lyme病、表皮水泡症、皮膚潰瘍等の結合組織を構成するコラーゲンの破壊によって特徴づけられ、しかも炎症を伴う各種の疾患の治療に有効な新規な化合物を提供することにある。

課題を解決するための手段

本発明によれば、上記の目的は、前記のテトラサイクリン誘導体を提供することによって達成される。

本発明により提供されるコラゲナーゼ阻害活性を有するテトラサイクリン系化合物と抗炎症性化合物とが結合してなる化合物の代表例として、下記的一般式 (I) で示される化合物 (以下、これを化合物 (I) と略称することがある) が挙げられる。



(式中、[TC]と[Z]はエステル結合またはアミド結合によって結合しており、[TC]は水酸基に換えて水酸基から水素原子を除去することにより誘導される基をm個および/またはアミド基に換えてアミド基からアミノ基を除去することにより誘導される基をn個有するテトラサイクリン系化合物の残基を表し、[Z]は[TC]が水酸基から水素原子を除去することにより誘導される基をm個有するテトラサイクリン系化合物の残

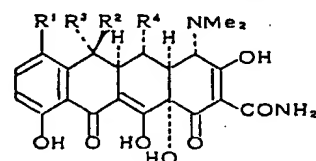
で示される化合物が好ましく、なかでも下表に示すR¹、R²、R³およびR⁴を有する汎用のテトラサイクリン系化合物が特に好ましい。

テトラサイクリン系化合物	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
オキシテトラサイクリン	H	OH	CH ₃	OH
テトラサイクリン	H	OH	CH ₃	H
デメチルクロロテトラサイクリン	Cl	OH	H	H
ミノサイクリン	N(CH ₃) ₂	H	H	H
クロロテトラサイクリン	Cl	OH	CH ₃	H
ドキシサイクリン	H	H	CH ₃	OH

抗炎症性化合物としては、一般的に汎用されている非ステロイド性抗炎症化合物が好ましいが、主に抗リウマチ剤として使用される免疫調節作用を有する化合物、その他免疫抑制作用を有する化合物、副腎皮質ステロイドホルモンなども用いることができる。これら化合物のうち、上記に例示したテトラサイクリン系化合物の水酸基またはカ

基を表す場合、カルボキシル基から水酸基を除去することにより誘導される基を1個有する抗炎症性化合物の残基を表し、[TC]がアミド基からアミノ基を除去することにより誘導される基をn個有するテトラサイクリン系化合物の残基を表す場合、アミノ基から1個の水素原子を除去することにより誘導される基を1個有する抗炎症性化合物の残基を表し、(m+n)は[TC]と結合する[Z]の個数を表し、mとnは同時に0を表すことはなく、mは0～6の整数を表し、nは0～2の整数を表す)

テトラサイクリン系化合物としては一般式



(式中、R¹は水素原子、塩素原子またはN、N-ジメチルアミノ基を表し、R²およびR⁴は水素原子または水酸基を表し、R³は水素原子またはメチル基を表す)

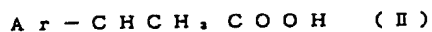
ルボニル基に、直接またはリンカーを介してエステル結合またはアミド結合等により結合させうる置換基を有するものが好ましい。

非ステロイド性抗炎症化合物としては、例えばジクロロフェナック [2-(2,6-ジクロロアニリノ)-フェニル酢酸]、ロキソプロフェン [2-(4-(2-オキソシクロペンチル)メチル)フェニル]プロピオン酸]、ブラノプロフェン [2-(5-H-[1]ベンゾピラノ[2,3-b]ピリジン-7-イル)プロピオン酸]、スリダク [(2)-5-フルオロ-2-メチル-1-(4-(メチルスルフィニル)フェニル)メチレン)-1H-インデン-3-酢酸]、オキサプロジン [4,5-ジフェニル-2-オキサゾールプロピオン酸]、メフェナム酸 [N-(2,3-キシリル)アントラニル酸]、チアプロフェン酸 [5-ベンゾイル-α-メチル-2-チオフェン酢酸]、イブプロフェン [2-(4-イソブチルフェニル)プロピオン酸]、フェンブフェン [4-(4-ビフェニル)-4-オキソ酪酸]、

フルルビプロフェン〔2-(2-フルオロ-4-
ビフェニル)プロピオン酸〕、インドメタシン
〔1-(4-クロロベンゾイル)-5-メトキシ
-2-メチル-1*N*-インドール-3-酢酸〕、
ナプロキセン〔(+)-6-メトキシ- α -メチ
ル-2-ナフタレン酢酸〕、EGIS-5645
〔2,4-ジアミノ-5-(3,4-ジメトキシ
ベンジル)ピリミジン〕、ピラゾラック〔4-
(*p*-クロロフェニル)-1-(*p*-フルオロフェ
ニル)ピラゾール-3-酢酸〕、ロナソラク〔3-
(*p*-クロロフェニル)-1-フェニルピラゾ
ール-4-酢酸〕、E-5110〔*N*-メトキシ
-3-(3,5-ジ-*t*-ブチル-4-ヒドロキシ
ベンジリデン-2-ピロリドン〕、CN-100
〔2-(10,11-ジヒドロ-10-オキソジ
ベンゾ〔*b, f*〕チエピン-2-イル)プロピオ
ン酸〕、MS-932〔4-(アセチルアミノ)
フェニル酢酸〕、TZI-41078〔4-ヒド
ロキシ-3,5-ジ(*t*-ブチル)ベンゾフェ
ンオキシム〕、エトドラク〔1,8-ジエチル-

1,3,4,9-テトラヒドロピラノ〔3,4-
b〕インドール-1-酢酸〕、TENIDAP
〔5-クロロ-2,3-ジヒドロ-2-オキソ-
(2-チエニルカルボニル)-インドール-1-
カルボキサミド〕、ソリプロフェン〔2-(4-
(2-チアゾリルオキシ)フェニル)プロピオ
ン酸〕、トルフェナム酸〔*N*-(2-メチル-3-
クロロフェニル)アントラニル酸〕、アルミノ
プロフェン〔2-(*p*-メチルアリルアミノフェ
ニル)プロピオン酸〕、BW 755C〔3-アミノ-
1-(3-(トリフルオロメチル)フェニル)-
2-ピラゾリン〕等が挙げられ、また免疫調節作
用または免疫抑制作用を有する化合物としては、
例えばロベンザリット〔4-クロロ-2,2'-
イミノジベンゼンカルボン酸〕、サラソスルファ
ピリジン〔2-ヒドロキシ-5-(4-(2-
ピリジニルアミノ)スルホニル)-フェニル)
アゾ〕-ベンゼンカルボン酸〕、チロミソール
〔3-(*p*-クロロフェニル)チアゾロ〔3,2-
a〕ベンズイミダゾール-2-酢酸〕等が挙げ

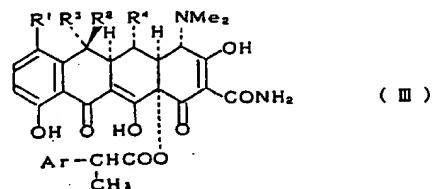
られる。抗炎症性化合物としては、ロキソプロフ
ェン、プラノプロフェン、チアプロフェン酸、イ
ブプロフェン、フルルビプロフェン、ナプロキセ
ン等に代表される芳香族置換アルキルカルボン酸
を用いるのがより好ましい。芳香族置換アルキル
カルボン酸は一般式(II)



〔式中、*Ar*はイブプロフェン、ナプロキセン、
フルルビプロフェン、ロキソプロフェン、チアプ
ロフェン酸、プラノプロフェン等の芳香族置換ア
ルキルカルボン酸から α -メチルプロピオン酸部
分を除去した残基を表す〕

で示される(以下、これを芳香族置換アルキルカ
ルボン酸(II)と略称する)。

本発明のテトラサイクリン誘導体として、コラ
ゲナーゼ阻害活性と抗炎症作用との薬理作用発現
上のバランスからテトラサイクリン1分子と1分
子の抗炎症性化合物とが結合してなる化合物また
はその塩が好ましい。特に化合物(I)のうち一
般式(III)



〔式中、*R*¹、*R*²、*R*³、*R*⁴および*Ar*は前記定
義のとおりである〕

で示されるテトラサイクリン芳香族置換アルキル
カルボン酸エステル(以下、これを化合物(III)
と略称する)が好ましい。

テトラサイクリン系化合物と抗炎症性化合物と
は、抗炎症性化合物がカルボキシル基を含有する
場合には該カルボキシル基とテトラサイクリン系
化合物の水酸基とがエステル結合により結合し、
また抗炎症性化合物がカルボキシル基を含まずに
例えばアミノ基を含有する場合には、まず抗炎症
性化合物のアミノ基とコハク酸無水物、アジピン
酸無水物等を反応させることにより該抗炎症性化
合物にアミド結合を介してカルボキシル基とテト
ラサイクリン系化合物とが結合し、次いで導入したカルボキシル基とテト

ラサイクリン系化合物の水酸基とがエステル結合するか、または該アミノ基がテトラサイクリン系化合物のアミド基のアミノ基と交換反応することによりアミド結合する。

エステル(Ⅲ)の合成法について、テトラサイクリン系化合物としてテトラサイクリンを選び、かつ抗炎症性化合物として芳香族置換アルキルカルボン酸を選んだ場合について以下に詳しく説明する。

[ジシクロヘキシルカルボジイミド法]

芳香族置換アルキルカルボン酸(Ⅱ)とこれに対して約1.0~2.0当量、好ましくは約1.0~1.2当量のジシクロヘキシルカルボジイミドをテトラヒドロフラン、1,2-ジメトキシエタン、塩化メチレン、クロロホルム等の不活性溶媒中で約0.5~2.0時間、好ましくは約0.5~1.0時間室温で攪拌下に反応させたのち、反応混合液に芳香族置換アルキルカルボン酸(Ⅱ)に対して約0.5~1.0当量、好ましくは約0.7~0.9当量のテトラサイクリンを無

に留去し、その残渣をそのまま芳香族置換アルキルカルボン酸(Ⅱ)の酸クロリドとして使用することができる。

テトラサイクリンを無水ジオキサン、無水テトラヒドロフラン等のエーテル系溶媒に溶解し、得られた溶液に、約1~4当量のピリジン、トリエチルアミン等の塩基性化合物および触媒量の4-ジメチルアミノピリジンの共存下、または1~4当量の4-ジメチルアミノピリジンの共存下に、テトラサイクリンに対して約1~3当量の芳香族置換アルキルカルボン酸(Ⅱ)から調製した芳香族置換アルキルカルボン酸(Ⅱ)の酸クロリドを一度にまたは徐々に添加し、そのまま0℃~溶媒の沸点の範囲の温度、好ましくは室温で約2~14時間攪拌を継続する。反応終了後、反応混合液を濾過し、濾液を減圧下に濃縮したのち、その残渣を通常の抽出操作および精製操作に付すことによりエステル(Ⅲ)を取得することができる。

このようにして調製したエステル(Ⅲ)は1当量の塩酸、硫酸などの酸と処理することにより対

水ジオキサン、無水テトラヒドロフラン等のエーテル系溶媒に溶解して得られた溶液を一度にまたは徐々に添加し、そのまま0℃~溶媒の沸点の範囲の温度、好ましくは室温で約10~24時間攪拌を継続する。このとき、芳香族置換アルキルカルボン酸(Ⅱ)に対して約1~4当量のピリジン、トリエチルアミン等の塩基性化合物、および触媒量の4-ジメチルアミノピリジンを共存させるのが好ましい。反応終了後、反応混合液を濾過し、濾液を通常の精製操作に付すことによりエステル(Ⅲ)を得ることができる。

[酸ハライド法]

芳香族置換アルキルカルボン酸(Ⅱ)の酸ハライドへの変換は、公知の方法で実施することができる。例えば、芳香族置換アルキルカルボン酸(Ⅱ)に芳香族置換アルキルカルボン酸(Ⅱ)に対して約1.0~10.0当量の塩化チオニルを加え、ベンゼン等の不活性溶媒の共存下または非共存下に約1~5時間加熱還流したのち、過剰の塩化チオニルと溶媒使用時にはその溶媒を減圧下

応する酸の塩とすることができる。

このようにして調製したエステル(Ⅲ)のコラゲナーゼ阻害活性および抗炎症作用についての試験例を以下に示す。化合物(Ⅲ)としては芳香族置換アルキルカルボン酸(Ⅱ)としてフルルビプロフェンまたはロキソプロフェン(以下、前者をFと略記し、後者をRと略称することがある)を用い、これらとテトラサイクリン、クロロテトラサイクリンまたはドキシサイクリン(以下、これらをそれぞれTC、CTC、DCと略称することがある)とを反応させることにより調製した化合物(以下、これらをそれぞれF-TC、F-CTC、F-DC、R-TC、R-CTCおよびR-DCと略称することがある)を使用し、コラゲナーゼ阻害活性測定試験においてはDMATを対照薬として使用し、また抗炎症作用測定試験においてはFおよびRのナトリウム塩(以下、これらをそれぞれFおよびR-Naと略称することがある)を対照薬として使用した。

【コラゲナーゼ阻害試験】

コラゲナーゼの調製

日本白色家兎(4週令)のヒザ関節軟骨を無菌的に採取し、S. Collierらの方法[Ann. Rheum. Dis., 48,372(1989)参照]に従い、軟骨細胞を分離し、 4×10^6 個の細胞を30mlのハムF12培地(10%牛胎児血清を含む)に懸濁したのち、150cc培養フラスコ(岩城ガラス(株)製)中で、5%炭酸ガス飽和水蒸気を含む空気雰囲気下、37℃で培養した。培地は3~4日に1度交換した。細胞がフラスコ内でコンフルエントの状態まで増殖した時点で(培養7~8日後)、培地を30mlのハムF12無血清培地[30単位/mlのヒト・リコンビナント・インターロイキン 1α (Genzyme社製、米国)と0.4%ラクトアルブミン水解物(Sigma社製、米国)を含む]に替えて4日間培養後、得られた培養上清液を採取してコラゲナーゼ液として使用した。

コラゲナーゼ活性の測定

上記のコラゲナーゼ液について永井らの方法

[炎症, 4, 247(1984)参照]に従って、トリプシンで処理することにより活性化したのち、添加したトリプシンを大豆トリプシンインヒビター(Sigma社製)にて不活性化して活性コラゲナーゼ液を得た。コラゲナーゼ活性は、蛍光標識コラゲン溶液の分解活性を測定する永井らの方法[炎症, 4, 123(1984)参照]に準じて測定した。この分解活性は、35℃の温度下に1分間でコラゲン $1\mu\text{g}$ を分解する活性を1単位として求めた。

被験薬物をジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解して得られた溶液を、活性コラゲナーゼ液にDMSOの最終濃度が5%となるように添加した。薬物を添加しないときのコラゲン分解活性を100%として被験薬物を添加したときの阻害率を算出した。

コラゲナーゼ阻害活性

測定結果を第1表に示す。

第1表

被験薬物	50%阻害を示す薬物濃度 (IC ₅₀)
DMAT	$3 \times 10^{-4}\text{M}$
F-TC	$1 \times 10^{-3}\text{M}$
F-CTC	$1 \times 10^{-4}\text{M}$
F-DC	$3 \times 10^{-5}\text{M}$
R-TC	$1 \times 10^{-3}\text{M}$
R-CTC	$1 \times 10^{-4}\text{M}$
R-DC	$3 \times 10^{-5}\text{M}$

第1表から明らかなように、F-CTC、F-DC、R-CTCおよびR-DCの塩酸塩はDMATより強いコラゲナーゼ阻害効果を有し、F-TCおよびR-TCの塩酸塩はDMATよりやや弱いコラゲナーゼ阻害効果を有する。なお、FおよびR-Naについては $1 \times 10^{-3}\text{M}$ の濃度でコラゲナーゼ阻害活性が認められなかった。

【抗炎症作用】

F-TC、F-CTC、F-DC、R-TC、R-CTCおよびR-DCの抗炎症作用を、急性の炎症モデルであるラットを用いてのカラゲニン浮腫法により検定した。

試験方法

ウィスター系雄性ラット(7週令)を1群8匹とし試験に用いた。ラムダ(λ)-カラゲニン(Picnin A[®]、逗子化学研究所製)を生理食塩水に1%の濃度となるように溶解し、得られた溶液の0.1mlをラットの左後肢足趾皮下に注射し、足容積をポリウムメータ(室町機械(株)製)を用いて6時間後まで測定した。浮腫誘発前の値との差を浮腫容積とし、1時間毎の浮腫容積の総和から抑制率を算出した。

なお、被験薬物は誘発直前に10%アラビアゴム水溶液に懸濁し、経口投与した。投与用量は10ml/kgとした。

試験結果

試験結果を第2表に示す。

第2表

被験薬物	投与量		抑制率 %
	mg/kg	μ mol/kg	
F	4	16	40.2
F-T C	10	14	41.3
F-C T C	10	13.5	39.5
F-D C	10	14	42.6
R-N a	2	7.5	46.2
R-T C	5	7.1	41.5
R-C T C	5	6.8	40.8
R-D C	5	7.1	43.1

第2表から明らかなように、F-T C、F-C T C、F-D C、R-T C、R-C T CおよびR-D Cの塩酸塩はともにFおよびR-N aと同程度の抗炎症効果を有する。

第1表および第2表から明らかなように、F-C T C、F-D C、R-C T CおよびR-D Cの

る薬剤組成物の投与は経口または非経口のいずれであつてもよい。経口用剤形としては、散剤、錠剤、乳剤、カプセル剤、顆粒剤、液剤（チンキ剤、流エキス剤、酒精剤、懸濁剤、リモナーゼ剤、シロップ剤などを含む）などが挙げられる。また非経口用剤形としては注射剤、点滴剤、軟膏剤、硬膏剤、液剤（酒精剤、チンキ剤、ローション剤などを含む）、湿布剤、塗布剤、噴霧剤、散布剤、リニメント剤、クリーム剤、乳剤などが挙げられる。

テトラサイクリン誘導体の投与量は、疾病、患者の重篤度、薬物に対する忍容性などにより異なるが、経口用の製剤、注射剤、点滴剤の場合には、通常成人1人あたり10～1000mgの範囲とすることができ、この投与量を1日1回または数回に分けて投与することができる。また非経口用の外用の場合には、テトラサイクリン誘導体として濃度0.001～10%、好ましくは濃度0.05～5%の製剤として使用するのがよい。

本発明のテトラサイクリン誘導体は適当な薬理

塩酸塩はD M A Tに比較し強いコラゲナーゼ阻害効果を有するうえに、FおよびR-N aと同程度の抗炎症効果を有する。また、F-T CおよびR-T Cの塩酸塩はD M A Tよりやや弱いコラゲナーゼ阻害効果を有するが、FおよびR-N aと同程度の抗炎症効果を有する。

このように本発明のテトラサイクリン誘導体はコラーゲン破壊によって特徴づけられる炎症を抑制する作用を有する。またテトラサイクリン誘導体は毒性試験においても低毒性であることが確認された。

以上の薬理試験の結果より、本発明のテトラサイクリン誘導体はコラーゲン破壊によって特徴づけられ、しかも炎症を伴う各種の疾患、特に関節リウマチおよび変形性関節炎に代表される関節疾患に有効であり、またReiter症候群、Lyme病などの感染が主原因とされる関節疾患、歯周病、角膜潰瘍、皮膚潰瘍、表皮水泡症等の治療に有効である。

本発明のテトラサイクリン誘導体を含有してな

学的に許容される希釈剤（または担体）を用いて常法に従って上記の種々の剤形に成形するために適合した薬剤組成物とすることができる。錠剤およびカプセル剤に成形するために適合した薬剤組成物（例えば粒剤）に用いられる希釈剤としては例えば次のものが挙げられる。(a) 充填剤および増量剤、例えば澱粉、砂糖、マニトール、ケイ酸など；(b) 結合剤、例えばカルボキシメチルセルロースおよび他のセルロース誘導体、アルギン酸塩、ゼラチン、ポリビニルピロリドンなど；(c) 湿潤剤、例えばグリセリンなど；(d) 崩壊剤、例えば寒天、炭酸カルシウム、重炭酸ナトリウムなど；(e) 溶解遅効剤、例えばパラフィンなど；(f) 再吸収促進剤、例えば第4級アンモニウム化合物など；(g) 表面活性剤、例えばセチルアルコール、グリセリンモノステアレートなど；(h) 吸着担体、例えばカオリン、ベントナイトなど；(i) 滑沢剤、例えばタルク、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、固体のポリエチレングリコールなど。錠剤およびカプセル剤に

は通常用いられる被覆、エンベロブ(envelope)および保護基質を含ませることができ、これらは乳白剤を含むことができる。被覆、エンベロブおよび保護基質は例えば重合体物質またはロウからつくることができる。座薬に成形するために適する薬剤組成物に用いられる希釈剤は、例えば通常用いられる水溶性または非水溶性の希釈剤、例えばポリエチレングリコール、脂肪(例えばココア油、脂肪酸のアルコールエステルなど)またはこれらの希釈剤の混合物などであってもよい。軟膏剤、塗布剤およびクリーム剤として用いる薬剤組成物には、例えば動物性または植物性の脂肪、ロウ、パラフィン、澱粉、トラガカント、セルロース誘導体、ポリエチレングリコール、シリコン、ベントナイト、ケイ酸、タルク、酸化亜鉛などの通常用いられる希釈剤およびこれらの混合物などを含ませることができる。粉末およびスプレーとして用いる薬剤組成物には、例えば通常用いられる希釈剤、例えばラクトース、タルク、ケイ酸、水酸化アルミニウム、ケイ酸カルシウム、ポリアミ

シル化イソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルビット、ソルビタンエステルなど)等の液体希釈剤、微結晶性セルロース、メタ水酸化アルミニウム、ベントナイト、寒天、トラガカントまたはこれらの混合物などを含ませることができる。また、これらすべての薬剤組成物には着色剤、保存剤、芳香および風味添加物(例えばはっか油、ユーカリ油など)、甘味剤(例えばサッカリンなど)などを含ませることができる。

実施例

以下に、本発明を具体的に説明する。なお本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

実施例1

F-TCの合成

フルルビプロフェン 143mg(0.6ミリモル)をテトラヒドロフラン 5mlに溶解し、得られた溶液にジシクロヘキシルカルボジイミド 122mg(0.6ミリモル)を加えて攪拌した。30分後、TC 222mg(0.5ミリモル)のテトラヒドロフラン 20ml溶液を滴下し、次いで4-ジメチルアミノピリジン

ド粉末またはこれらの混合物などを含ませることができる。エアロゾルスプレーには、例えば通常用いられる噴射基剤、例えばクロロフルオロ炭化水素などを含ませることができる。溶液および乳液として用いる薬剤組成物には、例えば溶媒、溶解剤および乳化剤など通常用いられる希釈剤を含ませることができる。かかる希釈剤の例としては、エチルアルコール、イソプロピルアルコール、酢酸エチル、酢酸メチル、ベンジルアルコール、安息香酸ベンジル、プロピレングリコール、ジメチルホルムアミド、食用油(例えば落花生油、アーモンド油、分画ココナツ油、魚肝油など)、グリセリン、テトラヒドロフルフリルアルコール、ポリエチレングリコール、ソルビトールの脂肪酸エステル、またはこれらの混合物が挙げられる。非経口投与される溶液および乳液である薬剤組成物は無菌的にそして適当には血液等張に調製すべきである。懸濁液として用いる薬剤組成物には通常用いられる希釈剤、例えばエチルアルコール、プロピレングリコール、表面活性剤(例えばエトキ

20 mgを加え、一夜室温で攪拌した。反応混合液を濾過し、濾液をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ダイソーゲルIR-60、ダイソー(株)製:クロロホルム-メタノール)で粗精製したのち、分取液体クロマトグラフィー(LC-09型、日本分析工業(株)社製、JAIGEL-1Hカラム、テトラヒドロフラン溶媒)で精製し、黄色粉末70mg(収率25%、融点141~143℃)を得た。このものの分析結果を以下に示す。

$^1\text{H-NMR}$ 分析 δ (ppm, CDCl_3):

3.88, 3.82(1H, q, Ar-CH(CH₃)COO-);

3.2-3.4(1H, m, 5a-H); 2.52(6H, N-(CH₃)₂);

$^{13}\text{C-NMR}$ 分析 δ (ppm, DMSO-d_6):

原料TCのC-12aに帰属されるシグナル δ =73.3が δ =81.9, 81.6に移動し、原料フルルビプロフェンのカルボン酸由来のカルボニル炭素に帰属されるシグナル δ =175.4が δ =173.2に移動した。このことから、TCの12a-OHとフルルビプロフェンがエステル結合していることが確認された。

FD-MASS : $m/e=671(M+1)$

これらの分析結果により、上記の生成物はTCとフルルビプロフェンが結合したF-TCであることが確認された。

実施例 2

F-TCの合成

フルルビプロフェン500mg (2.0ミリモル) に窒素で窒素ガス雰囲気下で塩化チオニル 1mlを滴下し、滴下完了後、1時間還流した。反応混合液を減圧下に濃縮し、その残渣にベンゼン10mlを加えて減圧下に濃縮し、再度残渣にベンゼン10mlを加えて減圧下に濃縮した。得られた濃縮液にTC 444mg (1.0ミリモル)、4-ジメチルアミノピリジン250mg (2.0ミリモル) のテトラヒドロフラン10ml溶液を加えた。室温で約2時間攪拌後、反応混合液を濾過し、濾液に水を加えクロロホルムで抽出した。抽出液を水洗、乾燥、濃縮後、得られた濃縮液を分取液体クロマトグラフィー (LC-09型、日本分析工業(株)製、J A I G E L-1 H カラム、テトラヒドロフラン溶媒) で精製し、実

された。

FD-MASS : $m/e=673(M+1)$

これらの分析結果により、上記の生成物はTCとロキソプロフェンが結合したR-TCであることが確認された。

実施例 4

F-CTCの合成

実施例 1 においてTC 222mgに代えてCTC 239mgを用いる以外は実施例 1 と同様の反応および操作を行うことにより、黄色粉末65mg (収率18%、融点138~140℃) を得た。このものの分析結果を以下に示す。

$^1\text{H-NMR}$ 分析 δ (ppm, CDCl_3) :

3.94, 3.88 (1H, q, Ar-CH(CH₃)COO-);

3.3-3.5 (1H, m, 5a-H); 2.42 (6H, N-(CH₃)₂);

$^{13}\text{C-NMR}$ 分析 δ (ppm, $\text{DMSO}-d_6$) :

原料CTCのC-12aに帰属されるシグナル $\delta=73.3$ が $\delta=81.3$ に移動し、原料フルルビプロフェンのカルボン酸由来のカルボニル炭素に帰属されるシグナル $\delta=175.4$ が $\delta=173.2$ に

実施例 1 で得たものと同一の分析結果を与えるF-TC 92mgを得た。

実施例 3

R-TCの合成

実施例 1 においてフルルビプロフェン143mgに代えてロキソプロフェン157mgを用いる以外は実施例 1 と同様の反応および操作を行うことにより黄色粉末47mg (収率15%、融点136~139℃) を得た。このものの分析結果を以下に示す。

$^1\text{H-NMR}$ 分析 δ (ppm, CDCl_3) :

7.48 (1H, t, 8-H); 7.07, 6.95 (2H, d, d, 7-H, 9-H)

3.85, 3.82 (1H, q, Ar-CH(CH₃)COO-);

2.48 (6H, N-(CH₃)₂);

$^{13}\text{C-NMR}$ 分析 δ (ppm, $\text{DMSO}-d_6$) :

原料TCのC-12aに帰属されるシグナル $\delta=73.3$ が $\delta=81.2$ に移動し、原料ロキソプロフェンのカルボン酸由来のカルボニル炭素に帰属されるシグナル $\delta=175.4$ が $\delta=173.2$ に移動した。このことから、TCの12a-OHとロキソプロフェンがエステル結合していることが確認

移動した。このことから、CTCの12a-OHとフルルビプロフェンがエステル結合していることが確認された。

FD-MASS : $m/e=705(M+1)$

これらの分析結果により、上記の生成物はF-CTCであることが確認された。

実施例 5

F-DCの合成

実施例 1 においてTC 222mgに代えてDC 222mgを用い、かつシリカゲルカラムクロマトグラフィーによる粗精製を省略する以外は実施例 1 と同様の反応および操作を行うことにより、黄色粉末45mg (収率13%、融点135~138℃) を得た。このものの分析結果を以下に示す。

$^1\text{H-NMR}$ 分析 δ (ppm, CDCl_3) :

3.90, 3.86 (1H, q, Ar-CH(CH₃)COO-);

3.2-3.3 (1H, m, 5a-H); 2.51 (6H, N-(CH₃)₂);

$^{13}\text{C-NMR}$ 分析 δ (ppm, $\text{DMSO}-d_6$) :

原料DCのC-12aに帰属されるシグナル $\delta=73.1$ が $\delta=81.5$ に移動し、原料フルルビプロ

フェンのカルボン酸由来のカルボニル炭素に帰属されるシグナル $\delta=175.4$ が $\delta=173.2$ に移動した。このことから、DCの12a-OHとフルルビプロフェンがエステル結合していることが確認された。

FD-MASS : $m/e=671(M+1)$

これらの分析結果により、上記の生成物はFD-DCであることが確認された。

実施例 6

R-CTCの合成

実施例1においてフルルビプロフェン143mgに代えてロキソプロフェン157mgを用い、かつTC222mgに代えてCTC239mgを用いる以外は実施例1と同様の反応および操作を行うことにより、黄色粉末22mg(収率7%、融点133~137℃)を得た。このものの分析結果を以下に示す。

$^1\text{H-NMR}$ 分析 δ (ppm, CDCl_3) :

7.48(1H, t, 8-H); 7.12, 6.89(2H, d, d, 7-H, 9-H)

3.88, 3.82(1H, q, Ar-CH(CH₃)COO-);

2.48(6H, s, -(CH₃)₂)

$^1\text{H-NMR}$ 分析 δ (ppm, CDCl_3) :

7.47(1H, t, 8-H); 7.13, 6.88(2H, d, d, 7-H, 9-H)

3.85, 3.81(1H, q, Ar-CH(CH₃)COO-);

2.49(6H, s, -(CH₃)₂)

$^{13}\text{C-NMR}$ 分析 δ (ppm, DMSO-d_6) :

原料DCのC-12aに帰属されるシグナル $\delta=73.1$ が $\delta=81.3$ に移動し、原料ロキソプロフェンのカルボン酸由来のカルボニル炭素に帰属されるシグナル $\delta=175.4$ が $\delta=172.8$ に移動した。このことから、DCの12a-OHとロキソプロフェンがエステル結合していることが確認された。

FD-MASS : $m/e=673(M+1)$

これらの分析結果により、上記の生成物はR-DCであることが確認された。

以下余白

$^{13}\text{C-NMR}$ 分析 δ (ppm, DMSO-d_6) :

原料CTCのC-12aに帰属されるシグナル $\delta=73.3$ が $\delta=80.9$ に移動し、原料ロキソプロフェンのカルボン酸由来のカルボニル炭素に帰属されるシグナル $\delta=175.4$ が $\delta=173.1$ に移動した。このことから、CTCの12a-OHとロキソプロフェンがエステル結合していることが確認された。

FD-MASS : $m/e=707(M+1)$

これらの分析結果により、上記の生成物はR-CTCであることが確認された。

実施例 7

R-DCの合成

実施例1においてフルルビプロフェン143mgに代えてロキソプロフェン157mgを用い、TC222mgに代えてDC222mgを用い、かつシリカゲルカラムクロマトグラフィーによる粗精製を省略する以外は実施例1と同様の反応および操作を行うことにより、黄色粉末20mg(収率6%、融点129~132℃)を得た。このものの分析結果を以下に示す。

発明の効果

本発明により提供されるテトラサイクリン誘導体は、上記の薬理試験の結果から明らかとなり結合組織の構成成分の1つであるコラーゲンの破壊によって特徴づけられ、しかも炎症を伴う各種の疾患の治療に有効である。

特許出願人 株式会社 クラレ
代理人 弁理士 本多 堅

第1頁の続き

⑤Int. Cl.³

// A 61 K 31/65

識別記号

庁内整理番号

45/06

ABG
ABJ
ABL
ACK
ADA
AED
ABE

7252-4C
8415-4C

⑥発明者 高見

正明

岡山県倉敷市水江1-1